

抗吡虫啉棉蚜种群对吡蚜酮等药剂的交互抗性 及施药对其生物学特性的影响

杨焕青¹, 王开运^{1,*}, 王红艳², 史晓斌¹, 牛芳¹

(山东农业大学植物保护学院, 山东泰安 271018; 2. 山东省农业科学院棉花研究中心, 济南 250100)

摘要: 为了明确吡蚜酮对抗吡虫啉棉蚜 *Aphis gossypii* 种群的防治效果, 提出抗吡虫啉棉蚜的治理策略, 利用抗吡虫啉棉蚜种群(RF₂₇)、敏感种群(SS)和夏津田间种群(XJ), 分别采用浸渍法、微量点滴法、生化测定法和系统观察法研究了棉蚜无翅成蚜对吡蚜酮等药剂的交互抗性及其生物学特性的影响。结果表明: 吡蚜酮对 RF₂₇, XJ 和 SS 的 LD₅₀ 分别为 1.213×10^{-5} , 8.506×10^{-5} 和 5.140×10^{-5} $\mu\text{g}/\text{头}$, RF₂₇ 对吡蚜酮表现出明显的负交互抗性现象。RF₂₇ 对啉虫脒、烯啶虫胺和噻嗪酮分别产生 2.35, 2.98 和 1.71 倍的抗性。RF₂₇ 的羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶的比活力较 SS 分别高 2.73 和 1.57 倍, 说明羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶比活力的提高是引起棉蚜对吡虫啉产生抗性的重要原因之一。吡蚜酮分别处理 RF₂₇, XJ 和 SS, 其羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶均受到显著抑制。吡蚜酮以低剂量处理 RF₂₇ 成蚜, 对其生长发育有显著的不利影响, 表现为若蚜存活率降低(64.60%), 净生殖率降低(10.39), 内禀增长率和周限增长率显著降低(分别为 0.21 和 1.23), 世代历期延长(10.87 d), 相对适合度较小(仅为 0.70)。这些结果表明吡蚜酮在棉蚜防治中具有很高的应用价值。

关键词: 棉蚜; 吡虫啉; 吡蚜酮; 交互抗性; 生物学特性

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)02-175-08

Cross-resistance of the imidacloprid-resistant population of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) to pymetrozine and other three pesticides and the effects of pesticide application on its biological characteristics

YANG Huan-Qing¹, WANG Kai-Yun^{1,*}, WANG Hong-Yan², SHI Xiao-Bin¹, NIU Fang¹ (1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Cotton Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: In order to clarify the control effects of pymetrozine on imidacloprid-resistant population of *Aphis gossypii*, and bring forward proposals on its management strategies, we used the wingless adult aphids of the imidacloprid-resistant population (RF₂₇), the Xiajin population (XJ) and the susceptible population (SS) to assay the cross-resistance of the RF₂₇ to pymetrozine and other pesticides and the effects of pesticide application on its biological characteristics by using the dipping method, microspot method, biochemical method and systematic observation method, respectively. The results showed that the LD₅₀ of pymetrozine to RF₂₇ was 1.213×10^{-5} $\mu\text{g}/\text{aphid}$, to XJ was 8.506×10^{-5} $\mu\text{g}/\text{aphid}$, and to SS was 5.140×10^{-5} $\mu\text{g}/\text{aphid}$, so RF₂₇ exhibited obviously negative cross-resistance to pymetrozine. The resistance ratio of RF₂₇ to acetamiprid, nitenpyram and buprofezin was 2.35, 2.98 and 1.71, respectively. Activities of carboxylesterases (CarE) and glutathione-S-transferases (GSTs) in RF₂₇ were significantly higher than those in SS, suggesting that the enhancement of activities of CarE and GSTs would be the main metabolic mechanism of the occurrence of resistance. Pymetrozine had an obvious inhibition on the CarE and GSTs activities in RF₂₇, XJ and SS. RF₂₇ treated by pymetrozine showed developmental disadvantages, including the lower nymphal survival rate (only 64.60%), the lower net reproductive rate (10.39), the longer mean generation time (10.87 d), the lower intrinsic rate of natural increase and the finite rate of increase (0.21 and 1.23 respectively), and the lower relative fitness (only 0.70). These results suggest that pymetrozine has high application value in controlling *A. gossypii*.

基金项目: 国家“十一五”支撑计划课题(2006BAD08A03)

作者简介: 杨焕青, 女, 1982 年生, 硕士, 主要从事农药毒理与害虫抗药性研究, Email: huanqingyang_1982@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: kywang@sdau.edu.cn

收稿日期 Received: 2008-09-16; 接受日期 Accepted: 2009-01-30

Key words: *Aphis gossypii*; imidacloprid; pymetrozine; cross-resistance; biological characteristics

棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 属同翅目蚜科,世界性分布,是危害棉花的主要刺吸式口器害虫之一。我国黄河流域棉区是棉蚜发生最严重的地区,自 20 世纪 50 年代以来,先后大量使用有机氯、有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯四大类杀虫剂防治棉蚜,导致棉蚜抗药性发展速度快、程度高、交互抗性谱广。至 20 世纪 90 年代末,棉蚜对有机氯以外的三大类杀虫剂均产生了高水平的抗药性(慕立义和王开运, 1986; Wang *et al.*, 2007)。新烟碱类杀虫剂吡虫啉(imidacloprid)等现已成为防治抗药性棉蚜的高效药剂(王开运等, 1999)。但是,因近年来连续使用吡虫啉防治棉蚜,已发现山东主要棉区棉蚜对吡虫啉的抗性发展较快(Wang *et al.*, 2007)。因此,如何延缓棉蚜对吡虫啉的抗性,已成为目前棉蚜防治中最为突出的问题。

吡蚜酮(pymetrozine)又称吡嗪酮,是诺华公司开发的新型吡啶杂环类杀虫剂,作用机理独特,对蚜虫、飞虱、粉虱杀虫活性优异,具有高效、低毒、高选择性和对环境生态安全等特性。本研究通过室内生测发现,吡蚜酮对棉蚜的毒力高,尤其对抗吡虫啉棉蚜种群的毒力更高。本文旨在探明吡蚜酮对不同棉蚜种群毒力、抗吡虫啉棉蚜种群和山东夏津棉蚜种群对该药剂的交互抗性情况,以及吡蚜酮对抗吡虫啉棉蚜种群生长发育和繁殖的影响,从而为棉蚜的抗性治理和吡蚜酮的科学使用提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试蚜虫: 敏感棉蚜种群(SS),于 2007 年 5 月采自山东省泰山中天门壶天阁附近的木槿树,从未使用过化学农药,对多种药剂均敏感,在温室内不接触任何药剂的条件下以笼罩盆栽棉苗培养。

1.1.2 供试药剂: 95.4% 吡虫啉(imidacloprid)原粉,江苏常州农药厂;92.0% 吡蚜酮原粉,山东寿光双星化工厂;95.0% 啉虫脒(acetamiprid)原粉,山东联合农药工业有限公司;95.0% 烯啶虫胺(nitenpyram)原粉,山东京蓬药业有限公司;98% 噻嗪酮(buprofezin)原粉,江苏安邦电化有限公司。

1.2 棉蚜抗性种群的选育

棉蚜的抗性选育参照王开运(1988)的方法。采用药液浸渍的方法,控制死亡率在 60%~70%。

将接有无翅成蚜的棉苗轻轻倒置,放入药液中浸 3~5 s,放回原处。待棉蚜繁殖到一定的数量后,继续选育,这样经多代处理选择诱导出抗药性种群。抗性选育的棉蚜不少于 200 株盆栽带蚜棉花。

抗吡虫啉棉蚜种群(RF₂₇),为 2007 年 5 月至 2008 年 6 月,在室内用吡虫啉对敏感种群无翅成蚜连续汰选 27 代,对吡虫啉抗性达 24.38 倍。山东夏津棉蚜种群(XJ),2008 年 7 月采自山东夏津县东郊棉田,在温室内以笼罩盆栽棉苗饲养繁殖对吡虫啉的抗性品系。

1.3 毒力测定

1.3.1 浸渍法: 先将原药配成乳油样品,用吐温-80 作乳化剂,丙酮作溶剂。测定时将药剂分别用水稀释成 5~6 个系列浓度,每一浓度处理棉苗 4 盆,每盆上有无翅成蚜 150~250 头;以清水处理为对照。将带蚜棉苗放入药剂中浸 3~5 s,水分挥发后立即检查原始虫数,处理后 48 h 检查存活虫数。

1.3.2 毛细管点滴法: 以丙酮为溶剂,将原药稀释成 5~6 个系列浓度,选取大小一致的无翅成蚜,用毛细管点滴处理,每一浓度处理 60 头,分 4 次重复,每头蚜虫点滴 0.0411 μL ,以点滴丙酮为对照。处理后将试虫置于光照培养箱中,温度控制在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$,相对湿度为 60%~75%,光周期为 14L:10D。48 h 检查存活虫数。

1.4 离体酶活性测定

1.4.1 酶液制备: 羧酸酯酶酶液:取 400 头无翅成蚜于匀浆器内,加入 2 mL 0.04 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0),在冰浴条件下匀浆,匀浆液于 4°C ,5 000 r/min 下离心 10 min,取上清液稀释 2 000 倍作为酶源。

谷胱甘肽-S-转移酶液:取 400 头无翅成蚜于匀浆器内,加入 2 mL 66 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0),在冰浴条件下匀浆,匀浆液于 4°C ,9 000 r/min 下离心 20 min,取上清液作为酶源。

1.4.2 测定方法: 羧酸酯酶比活力测定,参照 Van Asperene(1962)的方法,略有改进。反应混合液中含有 1 mL 羧酸酯酶酶液、5 mL 3×10^{-4} mol/L α -醋酸萘酯, 30°C 水浴保温 30 min 后加入 1 mL 显色剂,室温放置 30 min 后在 600 nm 波长下测 OD 值。根据制作的标准曲线和酶源蛋白含量的测定结果,将 OD 值转换成比活力 $\mu\text{mol}/\text{mg pro} \cdot \text{min}$ 。

吡蚜酮对 RF₂₇ 和 XJ 羧酸酯酶的抑制测定, 采用同上的方法, 测定吡蚜酮处理后的 RF₂₇ 和 XJ 棉蚜的羧酸酯酶比活力, 然后计算抑制率。

谷胱甘肽-S-转移酶(GST)比活力测定, 采用比色法测定。反应混合液中含有 0.2 mL 酶液、2.4 mL 66 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)、0.3 mL 50 mmol/L 还原型谷胱甘肽水溶液和 0.1 mL 0.03 mol/L 1-氯-2, 4-二硝基苯, 在 27℃ 水浴条件下反应 5 min, 340 nm 下测 OD 值, 根据制作的标准曲线和酶源蛋白含量的测定结果, 将 OD 值转换成比活力 $\mu\text{mol}/\text{mg pro} \cdot \text{min}$ 。

吡蚜酮对 RF₂₇ 和 XJ 谷胱甘肽-S-转移酶的抑制测定, 采用同上的方法, 测定吡蚜酮处理后的 RF₂₇ 和 XJ 棉蚜的谷胱甘肽-S-转移酶比活力, 然后计算抑制率。

酶源蛋白质含量测定, 采用 Bradford (1976) 的考马斯亮蓝 G-250 染色方法。吸取原酶液 0.1 mL 于试管中, 加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 溶液, 对照管中则加入 0.1 mL 磷酸缓冲液代替酶液, 混匀, 室温放置 5 min, 在 595 nm 下测 OD 值, 根据标准曲线求出蛋白质含量(μg)。

1.5 吡蚜酮对不同棉蚜种群蜜露分泌的影响

采用药液浸渍法, 以 0.5 mg/L 处理试虫(72 h 死亡率为 5%), 在盆口上方棉苗下方放一张滤纸, 在棉叶下方棉茎 2 cm 处涂上一圈凡士林, 防止棉蚜的逃逸, 处理后 24, 48 和 72 h 分别检查存活棉蚜的数目, 并更换滤纸。

蜜露的计数采用蜜露色斑法, 将换下来的滤纸用镊子放入 1 g/L 的水合茚三酮丙酮溶液中充分浸湿, 晾干后, 放入烤箱中在 100℃ 下烘烤 5 min, 蜜露即显示出浅紫红色斑点, 查出浅紫红色斑点的数目, 除以该日的存活蚜虫数目, 即为每蚜每日分泌的蜜露数。

1.6 吡蚜酮对不同棉蚜种群体重的影响

采用内吸法, 并参照 Nauen 等(1998)的方法略加改进。先用营养液配制 0.5 mg/L 的吡蚜酮溶液(72 h 死亡率 5%), 待棉苗平衡吸收 4 h 后, 挑取一定数量的无翅成蚜称重后接到棉苗上, 每盆棉苗接棉蚜 25 头, 重复 4 次。在距最下面棉叶 2 cm 处涂一圈凡士林, 防止棉蚜的逃逸, 以正常棉蚜为对照。于 24, 48 和 72 h 检查棉苗上的存活蚜虫数并称重,

计算 72 h 体重变化量。

1.7 实验种群生命表的构建

参照吴孔明和郭予元(1997)的方法构建不同棉蚜种群的实验种群生命表。将不同棉蚜种群在相同环境和营养条件下繁殖一代, 分别挑取不同棉蚜种群的健康无翅成蚜 30 头接到水培棉苗上(在距棉苗最下面一片子叶 2 cm 处涂一圈凡士林来防止棉蚜的逃逸)繁殖若蚜, 然后每个种群挑取 50 头若蚜, 重复 4 次。饲养方法参考刘树生(1987)的方法。采用新鲜成熟棉叶圆片, 贴在培养皿内的营养琼脂上, 用保鲜膜覆口。各棉蚜种群均饲养在恒温生化培养箱内, 温度控制在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度为 60% ~ 75%, 光周期为 14L: 10D。若蚜期每 2 ~ 4 h 观察 1 次, 记载蜕皮发生时间, 死亡数, 并随时移去蚜蜕和死蚜。成蚜期每日记载存活成蚜数及产仔量, 并随时移去若蚜, 直至成蚜死亡为止。试验期间, 及时更换新鲜叶片, 以保持寄主的营养状况基本一致。各棉蚜种群生命表的组建及种群参数的计算参照吴千红等(1991)以及李朝阳和吴坤君(1997)的方法。

$$\text{净生殖率}(R_0) = \sum LxMx;$$

$$\text{世代平均周期}(T) = \sum xLxMx / \sum LxMx;$$

$$\text{内禀增长率}(r_m) = \ln R_0 / T;$$

$$\text{周限增长率}(\lambda) = e^{r_m}。$$

1.8 数据统计与处理

试虫处理后 48 h 检查结果, 记录活虫数, 计算存活率, 采用 Abbott 公式计算校正死亡率, 并按机率值分析法用 POLO 数据处理系统计算毒力回归方程及 LC₅₀ 或者 LD₅₀ 值, 数据经 Duncan 氏新复极差检验, 比较在 95% 水平上的显著性。

2 结果与分析

2.1 抗吡虫啉棉蚜种群对吡蚜酮等 4 种药剂的抗性测定

吡蚜酮对 RF₂₇ 和 SS 的 LC₅₀ 分别为 0.645 和 2.279 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 抗性仅为 0.28 倍, 对 RF₂₇ 较 SS 更敏感, 表现出显著的负交互抗性现象; RF₂₇ 对啶虫脒、烯啶虫胺和噻嗪酮的抗性倍数分别为 2.35, 2.98 和 1.71 倍(表 1)。

表 1 抗吡虫啉棉蚜种群对吡蚜酮等 4 种药剂的抗性
Table 1 The resistance of imidacloprid-resistant population to pymetrozine and other three pesticides

| 药剂 Pesticide | 敏感种群 SS | | 抗性种群 RF ₂₇ | | 抗性倍数 Toxicity ratio (RF ₂₇ /SS) |
|------------------|----------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|---|
| | 斜率 Slope (Mean ± SE) | LC ₅₀ (95% FL) (μg/mL) | 斜率 Slope (Mean ± SE) | LC ₅₀ (95% FL) (μg/mL) | |
| 吡虫啉 Imidacloprid | 1.323 ± 0.203 | 0.316 (0.330 – 0.561) | 1.725 ± 0.200 | 7.703 (4.913 – 10.455) | 24.38 |
| 吡蚜酮 Pymetrozine | 1.005 ± 0.077 | 2.279 (1.242 – 3.430) | 1.246 ± 0.115 | 0.645 (0.473 – 1.285) | 0.28 |
| 啉虫脒 Acetamiprid | 3.402 ± 0.339 | 0.951 (0.821 – 1.084) | 1.801 ± 0.171 | 2.231 (1.592 – 3.243) | 2.35 |
| 烯啶虫胺 Nitenpyram | 2.173 ± 0.213 | 10.994 (4.179 – 17.443) | 2.180 ± 0.227 | 32.729 (16.492 – 48.152) | 2.98 |
| 噻嗪酮 Buprofezin | 1.567 ± 0.171 | 53.900 (35.167 – 91.186) | 1.338 ± 0.178 | 92.134 (57.482 – 123.087) | 1.71 |

2.2 夏津棉蚜种群(田间种群)对吡蚜酮的抗性
用毛细管点滴法测定得出,RF₂₇和 XJ 对吡虫啉的抗性分别达 38.9 和 34.6 倍,属中等抗性水平。吡蚜酮对 RF₂₇和 XJ 的 LD₅₀ 分别为 1.213 × 10⁻⁵和 8.506 × 10⁻⁵ μg/头,抗性倍数分别为 0.24 和 1.57 倍,表现出截然不同的反应(表 2)。

表 2 抗吡虫啉棉蚜种群和夏津种群对吡蚜酮的抗性比较
Table 2 The comparison of resistance of RF₂₇ and XJ to pymetrozine

| 药剂 Pesticide | 种群 Population | 斜率 Slope (Mean ± SE) | LD ₅₀ (μg/aphid) | 95% 置信区间 95% FL | 抗性倍数 Toxicity ratio (RF ₂₇ /XJ) |
|------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|------------------------------------|--|
| 吡虫啉 Imidacloprid | 敏感种群 SS | 1.703 ± 0.161 | 1.012 × 10 ⁻⁵ | (0.089 – 3.015) × 10 ⁻⁵ | 1.00 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 1.244 ± 0.142 | 3.944 × 10 ⁻⁴ | (3.230 – 5.045) × 10 ⁻⁴ | 38.9 |
| | 夏津种群 XJ | 1.176 ± 0.103 | 3.501 × 10 ⁻⁴ | (2.115 – 4.503) × 10 ⁻⁴ | 34.6 |
| 吡蚜酮 Pymetrozine | 敏感种群 SS | 1.885 ± 0.121 | 5.140 × 10 ⁻⁵ | (3.589 – 7.674) × 10 ⁻⁵ | 1.00 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 1.133 ± 0.102 | 1.213 × 10 ⁻⁵ | (1.513 – 2.765) × 10 ⁻⁵ | 0.24 |
| | 夏津种群 XJ | 1.544 ± 0.124 | 8.506 × 10 ⁻⁵ | (7.215 – 9.129) × 10 ⁻⁵ | 1.57 |

2.3 羧酸酯酶活性测定
RF₂₇的羧酸酯酶比活力达 8.9199 mmol/mg pro · min,是 SS 比活力(3.2690 mmol/mg pro · min)的 2.73 倍;XJ 的比活力为 6.4074 mmol/mg pro · min,是 SS 的 1.96 倍;表明羧酸酯酶活性是导致棉蚜对吡虫啉产生抗性的原因之一。吡蚜酮分别处理 RF₂₇和 XJ,其剩余活力分别为 5.4251 mmol/mg pro · min 和 5.7208 mmol/mg pro · min,抑制率分别达 39.2% 和 35.8%,证明吡蚜酮对羧酸酯酶有显著的抑制作用(表 3)。

表 3 不同棉蚜种群羧酸酯酶比活力测定
Table 3 CarE activities in wingless adults of different populations of Aphis gossypii

| 种群 Population | 羧酸酯酶比活力 (mmol /mg pro · min) Specific activity of CarE | 相对敏感种群的倍数 The ratio of enzymatic activity of different resistant populations to susceptible population | 抑制率(%) Inhibitory rate |
|---|---|---|---------------------------|
| 敏感种群 SS | 3.2690 ± 0.1541 d | 1.00 | – |
| 抗吡虫啉种群 RF ₂₇ | 8.9199 ± 0.0229 a | 2.73 | – |
| 吡蚜酮处理的抗吡虫啉种群 RF ₂₇ treated by pymetrozine | 5.4251 ± 0.2411 c | 1.66 | 39.2 |
| 夏津种群 XJ | 6.4074 ± 0.2629 b | 1.96 | – |
| 吡蚜酮处理的夏津种群 XJ treated by pymetrozine | 5.7208 ± 0.2643 c | 1.75 | 35.8 |

表中数据是 3 次重复的平均数 ± SE, 数据后不同字母表示差异显著 (P < 0.05); 下同。The data are means of 3 replications ± SE. Different letters indicate the significant difference (P < 0.05). The same below.

2.4 谷胱甘肽-S-转移酶活性测定

RF₂₇的谷胱甘肽-S-转移酶比活力为 99.790 μmol/mg pro·min,是 SS(63.604 μmol/mg pro·min)的 1.57 倍;XJ 的比活力为 90.320 μmol/mg pro·min,是 SS 的 1.42 倍;表明谷胱甘肽-S-转移酶也是引起棉蚜对吡虫啉产生抗性的原因之一。吡蚜酮分别处理

RF₂₇和 XJ,其剩余活力分别为 62.080 μmol/mg pro·min和 78.869 μmol /mg pro·min,抑制率分别达 37.8%和 12.7%,吡蚜酮对 RF₂₇的谷胱甘肽-S-转移酶抑制作用大,但对 XJ 的抑制作用相对较小,说明 XJ 的抗性机理较室内汰选的 RF₂₇更复杂(表 4)。

表 4 不同棉蚜种群谷胱甘肽-s-转移酶的活性
Table 4 GST activities in wingless adults of different populations of *Aphis gossypii*

| 种群 Population | 谷胱甘肽-S-转移酶比活力(μmol /mg pro·min) Specific activity of GST | 相对敏感种群的倍数 The ratio of enzymatic activity of different resistant populations to susceptible population | 抑制率(%) Inhibitory rate |
|---|---|--|---------------------------|
| 敏感种群 SS | 63.604 ± 1.617 d | 1.00 | — |
| 抗吡虫啉种群 RF ₂₇ | 99.790 ± 1.884 a | 1.57 | — |
| 吡蚜酮处理的抗吡虫啉种群 RF ₂₇ treated by pymetrozine | 62.080 ± 0.768 d | 0.98 | 37.8 |
| 夏津种群 XJ | 90.320 ± 0.628 b | 1.42 | — |
| 吡蚜酮处理的夏津种群 XJ treated by pymetrozine | 78.869 ± 1.255 c | 1.24 | 12.7 |

2.5 吡蚜酮对不同棉蚜种群的蜜露排泄的影响

吡蚜酮处理的 SS,RF₂₇和 XJ 的 72 h 蜜滴数分别为 0.85,0.64 和 1.14 滴/头,抑制率分别达 78.

3%,83.3%和 75.5%,明显低于相应的对照种群和吡虫啉处理的各棉蚜种群(表 5)。

表 5 吡蚜酮和吡虫啉对不同棉蚜种群蜜露排泄的抑制作用
Table 5 Inhibitory effect of pymetrozine and imidacloprid on honeydew excretion of different populations of *Aphis gossypii*

| 药剂 Pesticide | 种群 Population | 蜜滴数(滴/头)Honeydews (drops per aphid) | | | 72h 抑制率(%) Inhibitory rate at 72 h |
|---------------------------|-----------------------|-------------------------------------|----------------|---------------|---------------------------------------|
| | | 24 h | 48 h | 72 h | |
| 对照(清水) Control (water) | 敏感种群 SS | 3.74 ± 0.10 d | 3.86 ± 0.20 b | 3.91 ± 0.21 b | — |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 3.65 ± 0.12 d | 3.76 ± 0.14 b | 3.83 ± 0.10 b | — |
| | 夏津种群 XJ | 4.38 ± 0.17 a | 4.53 ± 0.22 a | 4.65 ± 0.21 a | — |
| 吡虫啉 Imidacloprid | 敏感种群 SS | 2.59 ± 0.01 f | 1.26 ± 0.06 de | 0.76 ± 0.05 e | 80.6 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 3.95 ± 0.15 c | 3.89 ± 0.20 b | 3.34 ± 0.13 c | 12.8 |
| | 夏津种群 XJ | 4.16 ± 0.16 b | 3.83 ± 0.13 b | 3.57 ± 0.15 c | 23.3 |
| 吡蚜酮 Pymetrozine | 敏感种群 SS | 3.41 ± 0.03 e | 1.45 ± 0.07 d | 0.85 ± 0.06 e | 78.3 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 3.24 ± 0.14 e | 1.13 ± 0.03 e | 0.64 ± 0.06 e | 83.3 |
| | 夏津种群 XJ | 3.71 ± 0.10 d | 2.11 ± 0.11 c | 1.14 ± 0.07 d | 75.5 |

2.6 吡蚜酮对不同棉蚜种群体重的影响

吡蚜酮处理的 SS,RF₂₇和 XJ 的 72 h 体重分别为 0.220,0.207 和 0.234 mg/头,各未处理对比种群的重量分别为 0.481,0.473 和 0.491 mg/头,抑

制率分别达 54.3%,56.2%和 52.3%。吡虫啉处理 SS,RF₂₇和 XJ 的抑制率分别为 58.2%,48.6%和 51.5%。表明吡蚜酮在亚致死剂量下可以显著抑制棉蚜的生长(表 6)。

表 6 吡蚜酮和吡虫啉对不同棉蚜种群体重的影响(内吸法)
Table 6 Influence of pymetrozine and imidacloprid on body weight of different populations of *Aphis gossypii* (stem systemic method)

| 药剂 Pesticide | 种群 Population | 体重 Bodyweight (mg/aphid) | | | | 72 h 抑制率 Inhibitory rate at 72 h (%) |
|---------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|
| | | 处理前 Before treatment | 24 h | 48 h | 72 h | |
| 对照(清水) Control (water) | 敏感种群 SS | 0.355 ± 0.014 a | 0.413 ± 0.016 b | 0.465 ± 0.012 b | 0.481 ± 0.023 b | — |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 0.358 ± 0.011 a | 0.407 ± 0.014 c | 0.452 ± 0.016 c | 0.473 ± 0.011 c | — |
| | 夏津种群 XJ | 0.366 ± 0.014 a | 0.425 ± 0.012 a | 0.478 ± 0.021 a | 0.491 ± 0.019 a | — |
| 吡虫啉 Imidacloprid | 敏感种群 SS | 0.368 ± 0.017 a | 0.242 ± 0.011 i | 0.226 ± 0.015 i | 0.201 ± 0.01 i | 58.2 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 0.367 ± 0.007 a | 0.283 ± 0.012 d | 0.267 ± 0.013 d | 0.243 ± 0.012 d | 48.6 |
| | 夏津种群 XJ | 0.375 ± 0.024 a | 0.272 ± 0.008 e | 0.256 ± 0.011 e | 0.238 ± 0.007 e | 51.5 |
| 吡蚜酮 Pymetrozine | 敏感种群 SS | 0.364 ± 0.012 a | 0.258 ± 0.011 g | 0.236 ± 0.008 g | 0.220 ± 0.014 g | 54.3 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 0.356 ± 0.051 a | 0.246 ± 0.014 h | 0.220 ± 0.011 h | 0.207 ± 0.015 h | 56.2 |
| | 夏津种群 XJ | 0.359 ± 0.009 a | 0.262 ± 0.012 f | 0.245 ± 0.015 f | 0.234 ± 0.016 f | 52.3 |

2.7 吡蚜酮对不同棉蚜种群生命表的建立

根据棉蚜各年龄组的存活率和净产蚜率建立年龄特征生命表。由表 7 看出,RF₂₇的若蚜期存活率、净生殖率、内禀增长率和周限增长率较 SS 均有显著

降低,世代历期延长,相对适合度较小。说明棉蚜对吡虫啉产生抗性后,其种群的生长发育和繁殖有显著降低。

表 7 不同棉蚜种群实验种群生命表参数
Table 7 Life table parameters of different populations of *Aphis gossypii*

| 药剂 Pesticide | 种群 Population | 若蚜期存活率(%) Survival rate of nymphs | 净生殖率 <i>R</i> ₀ | 世代历期(d) Generation duration | 内禀增长率 <i>r</i> _m | 周限增长率 <i>λ</i> | 相对适合度 Relative fitness (<i>R</i> _{rm} / <i>S</i> _{rm}) |
|--------------------------|-----------------------|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------|--|
| 对照(清水) Control(water) | 敏感种群 SS | 90.20 ± 2.10 a | 43.84 ± 1.52 a | 12.70 ± 1.35 b | 0.30 ± 0.11 a | 1.35 ± 0.22 a | 1.00 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 83.33 ± 1.73 b | 22.07 ± 1.05 b | 13.85 ± 1.31 a | 0.22 ± 0.05 c | 1.25 ± 0.12 c | 0.73 |
| 吡蚜酮 Pymetrozine | 敏感种群 SS | 77.65 ± 1.54 c | 16.54 ± 1.34 c | 11.40 ± 1.25 c | 0.25 ± 0.12 b | 1.28 ± 0.10 b | 0.83 |
| | 抗性种群 RF ₂₇ | 64.60 ± 1.12 d | 10.39 ± 0.56 d | 10.87 ± 1.22 d | 0.21 ± 0.04 c | 1.23 ± 0.08 d | 0.70 |

3 讨论

3.1 棉蚜对吡虫啉的抗性发展及抗吡虫啉棉蚜种群对吡蚜酮等 4 种药剂的抗性

吡虫啉较以往防治棉蚜的常用药剂相比,其杀虫机理不同,棉蚜对其抗性发展较为缓慢,发展速度远低于拟除虫菊酯类、有机磷类和氨基甲酸酯类杀虫剂,Wang 等(2002)使用氰戊菊酯 LD₆₀ 剂量诱导棉蚜 17 代,其 LD₅₀ 值由 1.12 × 10⁻⁵ μg/头变为 3.25 × 10⁻¹ μg/头,棉蚜对氰戊菊酯产生了 29 035 倍的抗性。而用吡虫啉 LD₆₀ 剂量诱导棉蚜 13 代,其

LD₅₀ 值从 2.70 × 10⁻⁵ μg/头增长至 1.27 × 10⁻⁴ μg/头,棉蚜对吡虫啉的敏感性仅相差 4.7 倍。于彩虹等(2004)报道使用吡虫啉的 LD₇₀ 剂量诱导棉蚜至 18 代,抗性为 10.07 倍。但是,近年来因棉田长期大量使用吡虫啉,导致棉蚜对吡虫啉的抗性发展速度加快,李菁和韩召军(2007)报道用吡虫啉诱导棉蚜 25 代,抗性达 20.03 倍,同时 2004 年山东省主要棉区的棉蚜已对吡虫啉产生不同程度的抗性(Wang *et al.*, 2007)。

尽管山东夏津棉区尚未使用吡蚜酮防治棉蚜,但吡蚜酮对 XJ 的毒力已较 SS 和 RF₂₇ 显著降低,其原因可能与山东夏津棉蚜防治中曾经使用过与吡蚜酮有交互抗性的药剂有关。

抗吡虫啉棉蚜种群与多种常用药剂具有交互抗性现象, Wang 等(2001)报道室内用吡虫啉诱导棉蚜 13 代, 与氰戊菊酯具有较高的交互抗性, 与灭多威、氧乐果、硫丹具有轻度的交互抗性, 同时与一些新型杀虫剂也具有交互抗性现象。吡虫啉与啶虫脒和烯啶虫胺同属新烟碱类杀虫剂, 因该 3 种药剂的作用靶标相同, 所以 RF₂₇ 对啶虫脒和烯啶虫胺产生交互抗性是必然的。但是, 噻嗪酮属昆虫蜕皮抑制剂, RF₂₇ 为何会对该药剂也产生交互抗性现象值得进一步深入研究。

3.2 吡蚜酮处理的不同棉蚜种群两种酶的活性

棉蚜对多种杀虫剂产生抗性, 仅从代谢机制来说, 酯酶起着重要的作用(孙鲁娟等, 2002)。本研究结果表明羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶活性的降低, 是 RF₂₇ 与吡蚜酮具有负交互抗性现象的主要原因。吡蚜酮对 RF₂₇ 的羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶抑制作用大, 但对 XJ 的抑制作用相对较小, 说明 XJ 的抗性机理较室内选育的 RF₂₇ 更复杂。

3.3 吡蚜酮对不同棉蚜种群生物学特性的影响

在蜜露分泌方面吡蚜酮对不同棉蚜种群均有很大的影响, 吡蚜酮能够通过干扰蚜虫的取食, 从而减轻棉蚜对棉花的危害; 但吡虫啉仅对 SS 蜜露排泄的抑制率高, 对 RF₂₇ 和 XJ 的抑制率较低。吡蚜酮处理的 RF₂₇ 其生物适合度显著下降, 若蚜期存活率、净生殖率、世代历期等显著降低, 存在明显的生殖劣势。有研究表明, 害虫对吡虫啉的抗性具有明显的不稳定性和易回复性, 因而抗性只在局部地区发生较为严重, 抗性治理也相对容易(Nauen and Denholm, 2005)。这可能与抗性种群的生物适合度下降有关。

吡蚜酮是新型的吡啶杂环类杀虫剂, 作用机理独特, 具有高效、低毒、高选择性、对环境生态安全等特点, 尤其适合于防治蚜虫、粉虱、飞虱等刺吸式口器的害虫。吡蚜酮的靶标为 5-羟色氨受体(Kaufmann *et al.*, 2004), 靶标新颖, 现尚未发现常用药剂作用于该靶标的报道, 因此, 吡蚜酮不易与其他药剂产生交互抗性。鉴于吡蚜酮对 RF₂₇ 和 XJ 的毒力高, 作用机制独特, 且对 RF₂₇ 生长发育和繁殖的不利影响大于 SS, 应是目前治理抗吡虫啉棉蚜种群和田间复合抗性种群的合理替换药剂。

参 考 文 献 (References)

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye

binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248–254.

Kaufmann L, Schqrman F, Yiallourous M, Harrewijn P, Kayser H, 2004. The serotonergic system is involved in feeding inhibition by pymetrozine: Comparative studies on a locust (*Locusta migratoria*) and an aphid (*Myzus persicae*). *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 138: 469–483.

Li CY, Wu KJ, 1997. A life table of experimental population of the aphid, *Macrosiphoniella sanborni* (Gillette). *Entomol. Knowl.*, 34(6): 333–335. [李朝阳, 吴坤君, 1997. 菊小长管蚜的实验种群生命表. 昆虫知识, 34(6): 333–335]

Li J, Han ZJ, 2007. Primary studies on resistance of *Aphis gossypii* to imidacloprid. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 9(3): 257–262. [李菁, 韩召军, 2007. 棉蚜对吡虫啉抗性的初步研究. 农药学报, 9(3): 257–262]

Liu SS, 1987. Introduction of an aphid cultural method – new leaf disc method. *Entomol. Knowl.*, 24(2): 113–116. [刘树生, 1987. 介绍一种饲养蚜虫的方法——新的叶子圆片法. 昆虫知识, 24(2): 113–116]

Mu LY, Wang KY, 1986. The investigation and research on resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to pyrethroid pesticide and carbofuran in China. *Pesticides*, 25(2): 1–6. [慕立义, 王开运, 1986. 我国棉花蚜虫对菊酯类农药及呋喃丹抗药性调查与研究. 农药, 25(2): 1–6]

Nauen R, Denholm I, 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: Current status and future prospects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 58(4): 200–215.

Nauen R, Koob B, Elbert A, 1998. Antifeedant effects of sublethal dosages of imidacloprid on *Bemisia tabaci*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 88: 287–293.

Sun LJ, Gao XW, Zheng BZ, 2002. Characteristics of carboxylesterase in omethoate-resistant and susceptible strains of cotton aphid, *Aphis gossypii*. *Acta Entomologica Sinica*, 45(6): 724–727. [孙鲁娟, 高希武, 郑炳宗, 2002. 棉蚜抗氧化乐果品系与敏感品系羧酸酯酶性质的比较. 昆虫学报, 45(6): 724–727]

Van Asperen K, 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.*, 8: 401–406.

Wang KY, 1988. The toxicity test and efficacy evaluation of methomyl to different resistant strains of *Aphis gossypii*. *Pesticides*, 27(3): 57–58. [王开运, 1988. 灭多威对不同抗性棉蚜品系的毒力测定及药效评价. 农药, 27(3): 57–58]

Wang KY, Guo QL, Xia XM, Wang HY, Liu TX, 2007. Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to selected insecticides on cotton from five cotton production regions in Shandong, China. *J. Pestic. Sci.*, 32(4): 372–378.

Wang KY, Liu TX, Jiang XY, Yi MQ, 2001. Cross-resistance of *Aphis gossypii* to selected insecticides on cotton and cucumber. *Phytoparasitica*, 29(5): 393–399.

Wang KY, Liu TX, Yu CH, Jiang XY, Yi MQ, 2002. Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to fenvalerate and imidacloprid and activities of detoxification enzymes on cotton and

- cucumber. *J. Econ. Entomol.*, 95(2): 407–413.
- Wang KY, Yi MQ, Jiang XY, Wang HX, 1999. Toxicity of imidacloprid on six aphids and temperature effects. *Pesticides*, 38(7): 13–14. [王开运, 仪美芹, 姜兴印, 王怀训, 1999. 吡虫啉对 6 种蚜虫的毒力和温度效应. *农药*, 38(7): 13–14]
- Wu KM, Guo YY, 1997. Investigation on population fitness of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomologica Sinica*, 41(Suppl.): 7–12. [吴孔明, 郭予元, 1997. 棉铃虫种群适合度研究. *昆虫学报*, 41(增刊): 7–12]
- Wu QH, Shao ZX, Su DM, 1991. The Ecological Experiments of Insects. Fudan University Press, Shanghai. 131–141. [吴千红, 邵则信, 苏德明, 1991. 昆虫生态学实验. 上海: 复旦大学出版社. 131–141]
- Yu CH, Lin RH, Wang KY, Yi MQ, Jiang XY, 2004. Resistance selection and resistance stability by several insecticides to *Aphis gossypii* Glover. *Acta Phytophylacica Sinica*, 31(4): 401–405. [于彩虹, 林荣华, 王开运, 仪美琴, 姜兴印, 2004. 棉蚜对吡虫啉等杀虫剂抗药性品系的室内选育及抗药性风险评价. *植物保护学报*, 31(4): 401–405]

(责任编辑: 赵利辉)